

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭60-87219

⑬ Int. Cl.

A 61 K 9/70
47/00

識別記号

ADZ

庁内整理番号

6742-4C
7043-4C

⑬ 公開 昭和60年(1985)5月16日

※審査請求 未請求 発明の数 2 (全6頁)

⑭ 発明の名称 活性物質デポー

⑮ 特 願 昭59-196960

⑯ 出 願 昭59(1984)9月21日

優先権主張 ⑰1983年9月24日⑱西ドイツ(DE)⑲P3334595.3

⑳ 発 明 者 ベーター・フレツケン
シュタイン

ドイツ連邦共和国D-6100ダルムシュタット、フランクフルテル・シュトラッセ250

㉑ 出 願 人 メルク・パテント・ゲ
ゼルシャフト・ミッ
ト・ベシユレンクテ
ル・ハフツング

ドイツ連邦共和国D-6100ダルムシュタット、フランクフルテル・シュトラッセ250

㉒ 出 願 人 インテルメディカー
ト・ゲゼルシャフト・
ミット・ベシユレンク
テル・ハフツングスイス国CH-6020エムメンブリュッケ、ゲルリスヴィル
シュトラッセ 74㉓ 代 理 人 弁理士 南 孝 夫 外1名
最終頁に続く

明 細 書

1. 発明の名称 活性物質デポー

2. 特許請求の範囲

- (1) コラーゲンを基材とする被吸収性活性物質デポーであつて、天然材料の多孔構造が保持されているコラーゲンがアミノグリコシド系抗生物質およびポリアニオン特性を有する生体に吸収されることができる重合体で負荷されていることを特徴とする、活性物質デポー。
- (2) 前記のコラーゲンが約60〜約95%の細孔容量を有する特許請求の範囲第1項に記載の活性物質デポー。
- (3) 前記の生体に吸収されることができる重合体として酸性多糖類を含有する特許請求の範囲第1項または第2項に記載の活性物質デポー。
- (4) 前記の酸性多糖類としてペクチン酸またはアルギン酸を含有する特許請求の範囲第3項に記載の活性物質デポー。
- (5) 前記の抗生物質としてゲンタマイシンを含有する特許請求の範囲第4項ないし第5項に記載の活性物質デポー。

有する特許請求の範囲第1項ないし第4項のいずれか一つに記載の活性物質デポー。

- (6) 前記の抗生物質を1〜10重量%の量で含有する特許請求の範囲第1項ないし第5項のいずれか一つに記載の活性物質デポー。
- (7) 前記の酸性多糖類がアミノグリコシド系抗生物質に対し過剰に存在する特許請求の範囲第1項ないし第6項のいずれか一つに記載の活性物質デポー。
- (8) 被吸収性活性物質デポーの製造方法であつて、天然材料の多孔構造が本質的に保持されているコラーゲンにアミノグリコシド系抗生物質およびポリアニオン特性を有する生体に吸収されることができる重合体を負荷することを特徴とする、活性物質デポーの製造方法。
- (9) コラーゲンマトリックスをまずアミノグリコシド系抗生物質の塩および酸性多糖類の塩の溶液で含浸し、次いでpHをpH4〜8の範囲に調節する、特許請求の範囲第8項に記載の方法。

00) ゲンタマイシンサルフェートをアミノグリコシド系抗生物質の塩として用い、そしてブレンゲン酸ナトリウムまたはペクテン酸ナトリウムを酸性多糖類の塩として用いる特許請求の範囲第8項または第9項に記載の方法。

3. 発明の詳細な説明

本発明はコラーゲンを基材とする被吸収性活性物質デポー (depot) に関する。

医療用活性物質のためのビヒクルとしては体内に導入されそして活性物質の放出期間中または期間後に体内で吸収され、その結果引続いて除去する必要がない多くの材料がすでに提案されている。一般に、これらは合成有機重合体であるが、コラーゲンを基材とする埋込剤もまた提案されている。

すなわち、西独特許出願公開第 2,843,963 号明細書に記載されている体内に吸収されることのできる成形組成物においては、粉末状の変性コラーゲンを活性物質および結合剤と共に圧縮して成形品を製造している。ヨーロッパ公開特

- 3 -

より特にアミノグリコシド系抗生物質の遅延放出を達成できることを見出した。

すなわち、本発明はコラーゲンを基材とする被吸収性活性物質デポーに関し、このデポーは天然材料の多孔構造が本質的に保持されているコラーゲンにアミノグリコシド系抗生物質および酸性多糖類を充填したことを特徴とする。

本発明は、また、被吸収性活性物質デポーの製造方法にも関し、この製造方法は天然材料の多孔構造が本質的に保持されているコラーゲンにアミノグリコシド系抗生物質および酸性多糖類を充填することを特徴とする。

本発明によるデポーを製造するための出発材料は、例えば西独特許第 2,854,490 号明細書に記載の方法により製造できる。

この方法により製造される被菌生産物、特に仔牛骨からのものは、黄白色で実質的に無味無臭であり且つ湿らすと海綿様状態に変わる極めて多孔質の固体の形態をとっている。天然骨の構造は、この状態でも本質的に変化しない多孔

- 5 -

特許出願第 69260 号明細書には、活性物質を含むシート状のコラーゲン挿入剤が記載され、またこれは適宜巻き上げて棒状体に成形することができる。このコラーゲンの調製には凍結乾燥されたコラーゲン溶液が用いられる。

しかしながら、これら調製物はすべて、活性物質の放出およびビヒクルの許容性および吸収性の点で未だ至適なものとはいえない。そこで本発明の目的は、特にアミノグリコシド系抗生物質をその活性物質が十分高い濃度で長期間にわたって放出されるように体内に導入することができ、しかも十分許容され且つ容易に吸収されることができる活性物質デポーを見出すことにある。

本発明者は、天然材料の多孔構造が本質的に保持されそして比較的大きな細孔容量を有するコラーゲンの空洞系に活性物質を沈着させることができること、そしてそのコラーゲンを体内に導入するとこれら活性物質が放出されることを見出した。また、酸性多糖類の付加的導入に

- 4 -

構造として本質的に保持されるため、細孔容量および細孔径分布もある程度の変化がある。しかしながら、約 60~約 95%、特に約 80% の細孔容量を有するような材料が選択される。一般に、その材料は約 0.07~約 0.269/cm³ の密度および約 500~1500% の水分吸収能を有する。極端な pH 値である場合 (加水分解による開裂が生じる) または例えば細菌性コラゲナーゼなどのタンパク分解酵素が存在する場合を除いて材料が可溶性断片に崩壊することはない。

他にも多孔質コラーゲンの製造方法は当業者に知られており、また適当な出発材料を得るために同様に用いることができる。

活性物質を負荷するには、材料をその活性物質の水溶液で含浸後乾燥するのが好ましい。マトリックス中の活性物質含量は溶液中の活性物質の濃度により調節することができる。適切ならば、活性物質含量をさらに高くするために活性物質による含浸およびそれに続く乾燥を数回行なうこともできる。一般に、このようにして

- 6 -

約1~10重量%の活性物質がコラーゲンマトリックス中に沈着される。

原則として人体および動物体における経過に影響を及ぼすことのできるすべての物質を活性物質として用いることができる。本発明においては、アミノグリコシド系抗生物質を沈着させるのが好ましく、そしてゲンタマイシンを用いるのが特に好ましい。

一般に、アミノグリコシド系抗生物質は水に易溶性の塩として、例えばサルフェートとして取扱われる。例えばゲンタマイシンサルフェートで負荷されたコラーゲンマトリックスは体内に導入されると比較的迅速に活性物質を放出する。これにより抗生物質濃度は極めて高くなるが、デポーは短時間の後に消耗される。しかしながら、例えば感染した骨の空洞の治療には、有効濃度を長時間にわたって維持するのが望ましい。

アミノグリコシド系抗生物質の難溶性誘導体、例えばヘスベリジンホスフェート、ラウリルサ

- 7 -

その難溶性だけに関連しているのではなく、多様なイオン相互作用の結果として活性物質の拡散速度がすでに低下していることにも関連している。多糖類は、著しい膨潤性およびフィルム形成性を有するためだけでもそれ自体ある程度の遅延をひき起こし、従つてこの物質群は遅延型のアミノグリコシド類の製造に特に有利である。何故ならそれはそれ自身様々な作用因子を最適に結合するからである。

化合物自体にこれら諸特徴を兼備している適当なポリアニオン性化合物は、様々なエステル化度をもつて例えば果実に存在する植物ペクチン、藻類、地衣類および他の下等植物由来の酸性炭水化物、遊離カルボキシルおよび/または硫酸モノエステルを含む動植物界由来の他の多糖類、例えばコンドロイチンサルフェート、ダーマタン(dermatan)サルフェート、ヘパランサルフェート、ヒアルロン酸などの群からの酸性多糖類である。

しかしながら、酸化セルロース、酸化デンプ

- 9 -

ルフェート、パモエート、フラボノイドホスフェート(西独公開特許出願第3,204,725号明細書参照)などが知られている。コラーゲンマトリックスをこれら難溶性誘導体で負荷すると放出が著しく遅延するため、この型のデポーを十分有利に用いることができる。

しかしながら、比較的易溶性の塩で負荷されているマトリックスを酸性多糖類で更に負荷すると、好ましい放出プロファイルを伴う極めて効果的な遅延を達成できることを今般見出した。本明細書にいう酸性多糖類とは生理学的に許容され、体内に吸収することができ、数十万までの分子量を有し、そして多数の酸性の、すなわちイオン化し得るカルボキシル基およびサルフェート基を含む多官能性多糖類、例えばペクチン酸、アルギン酸、およびカラゲナンなどである。これらの酸は塩基性アミノグリコシドを沈着させることのできるポリアニオンの形態をとる。さらに、これにより、アミノグリコシド抗生物質の難溶性誘導体が生じるが、遅延効果は

- 8 -

ンおよびその他の合成による酸性基をもつ高分子炭水化物に基づくポリ酸も適している。さらにまた、例えば核酸中に存在するような天然ポリホスフェートも原則として適している。

本発明において、これら物質はすべて、「酸性多糖類」の用語に含まれるものとして理解されるべきである。これらの定義により含まれる各種物質の適切度も様々であることは明らかである。しかしながら、当業者であれば、利用可能な材料から、生物学的適合性、被吸収能、ゲル形成およびフィルム形成作用および医療用活性物質に対する遅延作用の点で適したものを容易に選択することができる。ペクチン酸、アルギン酸およびカラゲニンが特によく適していることが判つた。

本発明による多糖酸は、アルカリ金属塩の形態にある場合、水溶性であり、そしてその濃度に応じて粘度の高低様々な溶液を形成する。この型の高分子物質の水性溶液を塩基性基を有する活性物質の水性溶液と混合する場合に生じる

- 10 -

沈殿はその溶液のpHに依存する。一般にpH7では沈殿は未だ観察されないが、沈殿は約pH8で通常始まり、そしてそれより低いpH値では一段と顕著になる。

pH値が5を下回ると、多糖類自体の溶解度が著しく低下するため、その場合には、活性物質が存在しなくてもゲル様沈殿が生じる。すなわち、コラーゲンマトリックスに活性物質を沈殿させるには、5～7のpH域が好ましい。

原則として、アミノグリコシドとポリ酸との付加物をコラーゲンマトリックスに導入するために予め沈殿を行なうことができ、これには例えばゲンタマイシンサルフェートと例えばアルギン酸ナトリウムまたはペクチン酸ナトリウムの溶液を混合しそして酸性化する。次いでその沈殿を超音波を用いてマトリックス内に分布させることができる。しかしながら、沈殿は、マトリックスそれ自体の中で行なうのが好ましい。このためには、マトリックスを易溶性アミノグリコシド塩と酸性多糖類の水溶性アルカリ金属

- 11 -

は、抗生物質の量、抗生物質中の塩基性基数、および多糖類中の酸性基数に依存する。抗生物質の多糖類との完全な反応を達成するには、多糖類の量を、酸性基数があるゆる場合に抗生物質中の塩基性基数よりも多くなるような量とすることが必要である。これによつて生じる典型的な重量比（これらは単に例として挙げるにすぎない）は、例えばゲンタマイシン塩基：ペクチン酸の場合は約1～1.5：約1～1.5であり、またゲンタマイシン塩基：アルギン酸の場合は約1～1.5：約1～2.5である。

しかしながら、適切な場合には、これらの数値よりも多いまたは少ない量を用いることも可能である。多糖類の量が抗生物質全量を結合するのに不十分な場合には、体内にデポーを導入した際比較的高い放出速度が初期に生じる。このことは、抗生物質の高い初期濃度を達成し、この濃度を次いで長期的有効用量まで低下させるのには極めて望ましいことでもある。

他方、ポリ酸を過剰に用いることによつて更

- 13 -

塩の溶液でまず負荷する。pHが5を下回るように、好ましくは5～7の範囲となるように調節することによりコラーゲンマトリックスの細孔系における沈殿を完了させる。このためのpHの調整は水性懸濁液中で、またマトリックスに2成分を負荷した後、次いで生理学的に許容できる陰イオンを形成する十分に揮発性の酸、例えばギ酸、酢酸およびその他のC₁～C₄カルボン酸などの蒸気を通じることにより行なうことができる。最後に、水と混和できる有機溶剤、例えばアセトンまたは低級アルコール、例えばメタノール、エタノールまたはプロパノールなどに浸漬し、所望のpHに調節するのに必要な量の生理学的に許容できる酸をこの溶剤に添加することにより行なうこともできる。この型の酸は生物学的に適合可能な陰イオンを形成するもの、例えばHCl、H₂SO₄、H₃PO₄、ギ酸、酢酸、乳酸、りんご酸などであるとして理解されるべきである。

抗生物質の沈殿に用いられる酸性多糖類の量

- 12 -

に遅延させることができる。何故なら多糖類はコラーゲンの細孔系中で膨潤し、酸性基が細孔系から拡散する抗生物質を可逆的に結合する型のイオン交換体として働くことは明らかであり、またそれによつて放出を遅速化するからである。すなわち、当業者は、広い範囲にわたつて放出プロファイルを変えることができる。あらゆる場合にも、簡単な予備試験により特定の抗生物質を沈殿させるのに十分な特定の酸性多糖類の量を定めることができる。

活性物質／多糖類複合体の完全沈殿が多糖類の量だけにでなく特にpHにも依存することは既に記した。複合体の溶解度は生理学的pHでは依然として極めて高いことがあるので、そのコラーゲン／活性物質の組合せに、弱酸性域で高い緩衝能を有する緩衝物質を添加することも有利であり得る。このようにすれば、多糖類に由来する遅延効果は生理学的環境の中であつても完全に示される。

適切な緩衝系の例としては、ゼーレンゼン・

- 14 -

ホスフェート緩衝剤、酢酸ナトリウム／酢酸、乳酸ナトリウム／乳酸、りんご酸ナトリウム／りんご酸、酸性アミノ酸、例えばアスパラギン酸およびグルタミン酸などのナトリウム塩、塩基性アミノ酸、例えばアルギニンおよびリジンなどの塩酸塩、弱酸性ペプチドのナトリウム塩などが挙げられる。

アミノグリコッド抗生物質のほか、抗生物質療法を価値ある方法で補いまたは助ける他の活性物質をコラーゲンマトリックスに沈着させることもできる。これらの型の活性物質が酸性多糖類と相互作用できる塩基性基を持たなくても、沈着した多糖類による細孔系の一時的閉塞によつて不動化されているという理由だけで、これらの物質についてもコラーゲンマトリックスからの放出遅延が観察される。

コラーゲンマトリックスに活性物質および多糖類を負荷した後、そのデポーを、適切な場合には、簡単に洗浄して二重転化により形成された無機塩、例えば硫酸ナトリウムを除去する。

- 15 -

も完全に吸収されるまで分解し、これによつて生じる可溶性断片は正常な体内代謝に組込まれ、副作用は全く生じない。

このように本発明は価値ある新規活性物質デポーを利用可能にする。

実施例 1

NaOHでpH9に調整済みのゲンタマイシンサルフェート1.70gの水溶液200mlを、同じくNaOHでpH9に調整済みのペクチン酸ナトリウム(エステル化度は約8%)1.70gの水溶液200mlと混合する。大体の寸法が2×2×1cmの直方体粒子状の、西独特許第2,854,490号明細書に記載の方法により得られたコラーゲン1.00gをこの混合物に導入する。くり返し真空化、次いで換気することによりその多孔質材料から空気を除去する。次いで注意深く撹拌しながら、約1Nの希硫酸を混合物のpHが6.5となるまで流入させる。この後の全容量は約500mlである。次いでコラーゲン粒子を除去し、そして手短かに排液した後-20℃で凍結後凍結乾燥する。約2重量%

- 17 -

次いでデポーを単離し、乾燥しそして適切な場合には滅菌して包装する。

本発明によるデポーは抗生物質によるあらゆる局所治療に対して体内に導入でき、またそれは十分許容されかつ吸収に関し全く問題がないのでそこに留めておくことができる。骨感染症の局所治療にそれを用いるのが好ましい。この目的に用いた場合には、抗生物質の抗細菌作用に加えて、天然コラーゲンの骨髄癒着過程に対する有利な効果が示される。

本発明によるデポーは、各種様々な幾何学的形状の成形品として得ることができる。端縁長さは約1~50mmの範囲で変えることができるが、約10mmの端縁長さを有する長方形成形品が好ましい。しかしながら、使用目的に応じて、円柱状、くさび状、頭蓋冠状および他の幾何学的形状の成形品を製造することもできる。最後に、1mm以下の粒径を有する不規則形状の顆粒を得ることも可能である。

体内では、コラーゲンおよび多糖類はいずれ

- 16 -

のゲンタマイシン塩基を含有するこのようにして得られた活性物質デポーは照射および、例えば二重はがし式袋に封入することにより滅菌包装できる。

実施例 2

実施例1と同様の方法を実施するが、1.70gのゲンタマイシンサルフェートおよびペクチン酸ナトリウムの代わりに、それぞれについて4.5gを用いる。得られる活性物質デポーは約5重量%のゲンタマイシン塩基を含有する。

特許出願人	メルク・パテント・ゲゼルシャフト・ミット・ベシュレンクテル・ハフツング
特許出願人	インテルメディカート・ゲゼルシャフト・ミット・ベシュレンクテル・ハフツング
代理人	弁理士 南 孝 夫



- 18 -

第1頁の続き

C 07 H 15/234
C 08 B 37/04
37/06

②発明者 ヘルムート・ヴァーリ
ツク

ドイツ連邦共和国D - 6100ダルムシュタット、フランクフルテル・シュトラッセ250

②発明者 エルフィラ・デイルゲ
ンダイン

ドイツ連邦共和国D - 6100ダルムシュタット、フランクフルテル・シュトラッセ250

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.